

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: 08178897 A

(43) Date of publication of application: 12.07.96

(51) Int. Cl.

G01N 27/447
B01D 57/02

(21) Application number: 06324991

(71) Applicant: SHIMADZU CORP

(22) Date of filing: 27.12.94

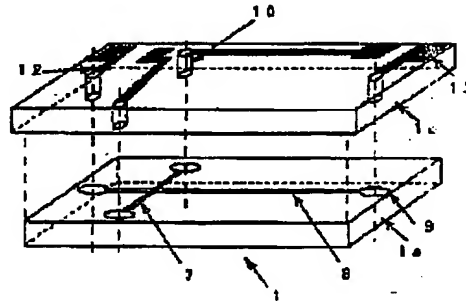
(72) Inventor: NAKANISHI HIROAKI

(54) ELECTROPHORESIS APPARATUS

(57) Abstract:

PURPOSE: To provide an electrophoresis apparatus which is easy to manipulate, simple in constitution and compact in size.

CONSTITUTION: A plate-like member 1 is formed integrally by bonding a first substrate 1a and a second substrate 1b. An analysis groove 8 with buffer storing parts 9 at both end parts thereof and a sample injection groove 7 are formed in the first substrate 1a. Through holes 10 are formed at positions facing the buffer storing parts 9 of the first substrate in the second substrate 1b. At the same time, an electrode film 12 is formed on the inner wall of the through hole and in the periphery of both surfaces of the through hole so as to impress a voltage. The second substrate 1b is connected to a high voltage source 103 of a main body 101 of the electrophoresis apparatus via the electrode film 12 to impress a voltage to execute electrophoresis.



COPYRIGHT: (C)1996,JPO

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-178897

(43)公開日 平成8年(1996)7月12日

(51)Int.Cl.⁶

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

G 0 1 N 27/447

B 0 1 D 57/02

G 0 1 N 27/ 26

3 3 1 Z

審査請求 未請求 請求項の数 2 O L (全 6 頁)

(21)出願番号

特願平6-324991

(22)出願日

平成6年(1994)12月27日

(71)出願人 000001993

株式会社島津製作所

京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地

(72)発明者 中西 博昭

京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地

株式会社島津製作所三条工場内

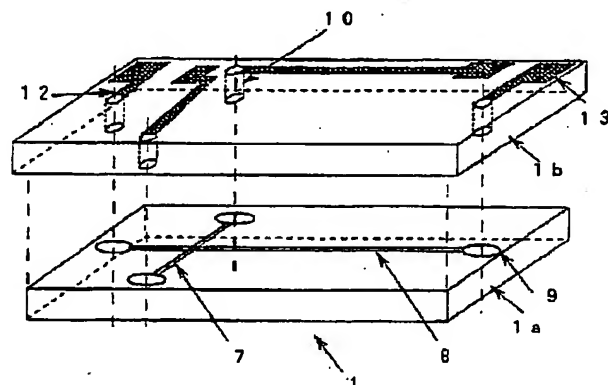
(74)代理人 弁理士 西岡 義明

(54)【発明の名称】 電気泳動装置

(57)【要約】

【目的】 操作が容易で、装置構成が簡略でしかも、小型化された電気泳動装置を提供する。

【構成】 板状部材1は、第1基板1aと第2基板1bとを接合することにより一体に形成され、第1基板1aには両端部分にバッファ溜部9を備えた分析用溝8および試料注入用溝7が形成され、第2基板1bには、前記第1基板のバッファ溜部9に対向する位置に貫通孔10が形成されるとともに、この貫通孔内壁および貫通孔の両面周辺に電圧印加のための電極膜12が形成され、この電極膜12を介して電気泳動装置本体101の高圧電源103との接続を行って電圧を印加し、泳動を行わせる。



(2)

特開平8-178897

【特許請求の範囲】

【請求項1】板状部材に溝を形成してこの溝に泳動バッファを導入するとともに電圧を印加し、溝内で試料を泳動させることにより分離し、分離された試料を電気泳動装置本体の検出器により検出して分析を行う電気泳動装置であって、前記板状部材は、第1基板と第2基板とを接合することにより一体に形成され、第1基板には両端部分にバッファ溜部を備えた分析用溝および試料注入用溝が形成され、第2基板には、前記第1基板のバッファ溜部に対向する位置に貫通孔が形成されるとともに、この貫通孔内壁および貫通孔の両面周辺に電圧印加のための電極膜が形成されたことを特徴とする電気泳動装置。

【請求項2】第1基板と第2基板とを接合することにより一体に形成され、第1基板には両端部分にバッファ溜部を備えた分析用溝および試料注入用溝が形成され、第2基板には、前記第1基板のバッファ溜部に対向する位置に貫通孔が形成されるとともに、この貫通孔内壁および貫通孔の両面周辺に電圧印加のための電極膜が形成されたことを特徴とする電気泳動装置のキャピラリーとして用いる板状部材。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、極微量のタンパクや核酸などを、高速かつ高分解能に分析する場合に利用される電気泳動装置に関し、さらに詳しくは、板状部材に形成した溝をキャピラリーとして用いるキャピラリー電気泳動装置に関する。

【0002】

【従来の技術】従来より極微量のタンパクや核酸などを分析する場合には、電気泳動装置が用いられており、その代表的な装置としてスラブゲル電気泳動法がある。

【0003】この装置は、一对のガラス板の間にゲルを充填し、ゲル泳動部を形成した後、ゲル泳動部の一端に試料を注入し、両端に電圧（～100V）を印加して、分析対象物を電気泳動させる事によりゲル上に展開するものである。展開された分析対象物の検出は、ゲル板上にレーザー光を照射してその吸光度を検出する方法や、染色剤で染色する方法、予め分析対象物をRI（ラジオアイソトープ）でラベルしておき、オートラジオグラフで検出する方法などにより行われている。

【0004】しかし、この装置では、ゲル内でのジュール熱による発熱が問題となるため、高電圧を印加して分析する事ができなかった。そのため、分析時間（泳動時間）に長時間（数十時間）を要するという欠点を有しており、DNA診断のように迅速な分析が必要とされる応用分野には有用な装置とは言えなかった。

【0005】そこで、これに代わる装置として、内径50μm程度もしくはそれ以下のガラスキャピラリー内に泳動バッファを充填し、一方の端に試料を導入した後、キャピラリー両端に高電圧を印加して、分析対象物をキ

ャピラリー内で展開させるキャピラリー電気泳動装置が提案されている。図5に、その装置の構成例を示す。ガラスキャピラリー20は、その両端を泳動バッファ22を満たした泳動バッファ溜め21に浸されており、各々の泳動バッファ溜め21には高圧電源24に接続された高電圧印加用の電極23が浸されている。そして、ガラスキャピラリー20の両端に高電圧を印加することで、分析対象物をキャピラリー20内で展開させ検出器25で検出している。この装置は、ガラスキャピラリー20内が容積に対して表面積が大きい、すなわち冷却効率が低いことより、高電圧の印加が可能となり、DNAなどの極微量試料を高速かつ高分解能にて分析することが可能である。

【0006】しかしながら、前記したキャピラリー電気泳動装置は、使用されるガラスキャピラリー外径が100～数100μm程度と細く破損し易いため、ユーザが行うべきキャピラリー交換時の取扱いが容易でなかった。

【0007】これに対し、D.J. Harrison et al. / Anal. Chim. Acta 283 (1993) 361-366に記されているように、2枚の基板を接合して形成された、板状のキャピラリー部材が提案されている。図6に従来の板状キャピラリー部材の例を示す。フォトリソグラフィ技術を用いて分析用流路溝7、試料注入用流路溝8および泳動バッファ溜め9を形成した基板1aと、泳動バッファ溜め9に対応する位置に超音波加工により貫通孔10を形成した基板1bを接合することで、板状のキャピラリー部材を構成している。このキャピラリー部材は板状をしているため、これまでのガラスキャピラリーに比べて破損しにくく、取扱いが容易である。板状キャピラリー部材による分析時は、貫通孔10から泳動バッファ溜め9に針状の電極（図示していない）を挿入し、キャピラリー両端に高電圧を印加することで、分析対象物をキャピラリー内で展開させる。図6には示していないが、展開した分析対象物は外部からレーザー光を照射してその吸光度を検出する方法などにより検出される。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、これまでの板状キャピラリー部材を用いた電気泳動装置における高電圧を印加する手段は、キャピラリー両端の泳動バッファ溜めに高電圧印加用電極を浸す方式であるために、装置全体の小型化が容易でないという課題を有していた。

【0009】さらに、泳動バッファ溜めに電極を浸す操作は、分析のたびにユーザが行うべきものであり、装置の操作簡略化の妨げとなっていた。

【0010】特に、貫通孔自体は泳動バッファや試料を注入するシリンジ等が挿入できる範囲でなるべく小さくすることが望ましいことから、普通は数mm以下の径にしてあるため、電極を貫通孔に入れる操作は煩わしく、この電極挿入を自動化するとしても高精度の位置合わせ

(3)

特開平8-178897

機構が必要となってしまう。

【0011】そこで、本発明は上記課題を解決するため、高電圧印加用の電極に関する操作および装置構成を簡略化したキャピラリー電気泳動装置を提供することを目的とする。

【0012】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決するためになされた本発明にかかる電気泳動装置は、板状部材に溝を形成してこの溝に泳動バッファを導入するとともに電圧を印加し、溝内で試料を泳動させることにより分離し、分離された試料を電気泳動装置本体の検出器により検出して分析を行う電気泳動装置であって、前記板状部材は、第1基板と第2基板とを接合することにより一体に形成され、第1基板には両端部分にバッファ溜部を備えた分析用溝および試料注入用溝が形成され、第2基板には、前記第1基板のバッファ溜部に対向する位置に貫通孔が形成されるとともに、この貫通孔内壁および貫通孔の両面周辺に電圧印加のための電極膜が形成されたことを特徴とする。また上記課題を解決するためになされた本発明にかかる電気泳動装置のキャピラリーとして用いる板状部材は、第1基板と第2基板とを接合することにより一体に形成され、第1基板には両端部分にバッファ溜部を備えた分析用溝および試料注入用溝が形成され、第2基板には、前記第1基板のバッファ溜部に対向する位置に貫通孔が形成されるとともに、この貫通孔内壁および貫通孔の両面周辺に電圧印加のための電極膜が形成されたことを特徴とする。以下、この電気泳動装置および板状部材がどのように作用するかを説明する。

【0013】

【作用】本発明によれば、板状部材に形成され、キャピラリーとして機能する溝の両端部分にあるバッファ溜部に、高電圧印加用の電極膜が一体形成されているため、分析時の電圧印加はこの電極膜を介して行うことができる。すなわち、電気泳動装置本体側にある電圧源との配線接続をこの電極膜を介して行うことにより、電気泳動装置全体の小型化が可能となる。

【0014】また、従来は分析のたびにユーザが行っていたキャピラリー両端の泳動バッファ溜めに高電圧印加用の電極を浸す作業が不要となり、操作の簡略化および装置構成の簡略化が図れ、自動分析化への対応も容易となる。

【0015】さらに本発明では、高電圧印加用の電極は貫通孔内壁を利用して泳動バッファ溜めから板状部材の外面に電極を引き出しているため、2枚の基板の接合面に凹凸がなく、気密に2枚の基板を直接接合する作業が容易となる。

【0016】

【実施例】まず、本発明の板状部材をフォトファブリケーション技術により作製するプロセスについて、図1により説明する。

【0017】ここで、フォトファブリケーション技術とは、フォトマスクのパターンを転写して複製を作製する技術をいい、一般にはフォトレジストまたはレジストと呼ばれる感光性材料を基板表面に塗布し、光でパターン転写する。そして、転写した平面的なパターンからエッチングなどによりある程度の立体的な形に加工するものである。使用するフォトレジストは、特に限定されるものでなく、後のエッチング工程における溶液に耐え得るものであれば何でもよい。また、その厚さは後のエッチング工程に耐え得る厚みが必要であるが、数 μm 程度の厚みが一般的である。さらに、フォトレジストの露光は、一般に半導体製造に用いられているアライナもしくはステッパなどを用いて行うことができる。以下のプロセスは一例としてガラスを基板に用いたものである。

【0018】(1) 基板1aに、エッチング保護膜3(例えばAu(数1000オングストローム)/Cr(数100オングストローム))を例えば真空蒸着装置により成膜し、パターンニング用レジスト2(例えばOMR83-1000op)をスピナーを用いて塗布する(図1(a))。ここで、基板材料は各種ガラス、石英もしくはSi基板が用いられ、それらの厚みは例えば0.2~1mm程度が望ましい。また、エッチング保護膜3の材質およびその厚みは、後のエッチング工程に耐え得るものであれば特に限定されるものではなく、基板1aがSi基板の場合は、窒化シリコン膜、酸化シリコン膜またはこれらの積層膜などが望ましく、厚みはいずれも数100オングストローム程度が一般的である。

【0019】(2) その後、フォトリソ用マスク4を用いて、アライナの紫外光にてレジスト2を露光・現像して所望の形状にパターンニングする(図1(b))。

【0020】(3) 次に、パターンニングされたレジスト2をエッチングマスクとして、エッチング保護膜3をパターンニングする。Auに対しては、例えばヨード、ヨー化アンモン、水、アルコールの混合液を用いて室温にてエッチングし、Crに対しては、例えば赤血塩、水酸化ナトリウム、水の混合液を用いて室温にてエッチングする(図1(c))。

【0021】(4) 続いて、パターンニングされたレジスト2およびエッチング保護膜3をマスクとして、基板1aを例えば、弗酸水溶液にてエッチング(室温)して、試料注入用流路溝7、分析用流路溝8および各溝の両端の泳動バッファ溜め9を形成する(図1(d))。その後、レジスト2および保護膜3をエッチング除去する。ここで、各種ガラスや石英に細溝をエッチング形成する方法としては、ウエットエッチングが挙げられる。そのエッチャントは、各種ガラスや石英がエッチングされる溶液であれば特に限定されるものではないが、例えば、弗酸系の溶液が使用されるのが一般的である。また、Si基板に細溝をエッチング形成する方法としては、ウエットエッチング(異方性エッチング)が挙げられる。異

(4)

特開平8-178897

方性エッチングに用いるエッチャントは、KOH水溶液、TMAH（テトラメチルアンモニウムヒドライド）、ヒドラジンなどこの分野で使用されているエッチャントであれば、特に限定されるものではない。

【0022】（5）ガラス基板1bには、例えば、テーパ状の貫通孔10を形成する（図1（e））。ここで、ガラスや石英基板に貫通孔を形成する方法は、特に限定されるものではないが、超音波加工を用いるのが一般的である。その貫通孔の形状は、図2により後で詳しく説明する。また、貫通孔の大きさは、特に限定されるものではないが、例えば開口直径は0.1～数mm程度が望ましい。

【0023】（6）その後、図示しないメタルマスクを介して基板1bの表面、裏面（貫通孔周囲部分のみ）および貫通孔内壁に、例えばAlをスパッタ成膜し、電極12およびコンタクトパッド13を形成する（図1

（f））。ここで、電極およびコンタクト用パッドの材料は、後の基板接合工程の熱に耐えられる導電体膜であれば他に限定されるものではなく、例えば、一般に半導体製造に用いられている配線材料（Al、Au、Cu、Cr）などの金属を挙げることができ、これらの材料を真空蒸着、スパッタリングなどの手段により形成することができる。この際の導電体膜の厚みは特に限定されるものではないが、数100～数1000オングストローム程度が一般的である。

【0024】（7）最後に、ガラス基板1aと1bを接合面で重ね合わせて、例えば、真空炉中にて600℃程度に数時間加熱した後、自然冷却することで融着する（図1（g））。ここで、2枚の基板の接合手段は特に限定されるものではないが、本発明の場合は微量分析装置ゆえ、接着剤は使用せず基板同士を直接接合するのが望ましい。ガラス同士の接合には、上記したように、真空中もしくは窒素置換雰囲気中で600～900℃程度に加熱することで、2枚のガラスを融着する手段が望ましい。また石英の接合には、例えば、少なくとも一方の基板接合面にガラスをスパッタ成膜した後、上記と同様に加熱する手段が望ましい。さらにガラスとシリコンを接合する場合は、例えば、400℃程度に加熱してガラス側に-1kV程度の負電圧を印加して接合する陽極接合法を用いても良い。

【0025】以上のプロセスにより、高電圧印加用の電極およびコンタクトパッドが一体形成された、板状部材（板状キャピラリー部材）1が形成される。

【0026】次に、本発明の板状部材に用いる高電圧印加用の電極部の断面を図2を用いて説明する。電極膜12は、貫通孔10の内壁を利用して泳動バッファ溜め9から板状部材1外面に引き出されている。本実施例の貫通孔10は、基板1bの両面からテーパ形状（例えばテーパ角数～数10°程度）が加工されている。これは、特殊なプロセス（例えば、基板を傾ける）を用いず、

基板1b両面に電極を形成する工程中（真空蒸着、スパッタ成膜など）に、同時に貫通穴内壁にも電極を連続的に形成するためである。ここで、貫通穴10の形状は、貫通穴内壁に電極を連続的に形成できる形状であれば特にこだわらず、例えば単純なテーパ状もしくは階段状に穴径を変化させておいても良い。

【0027】さらに、本実施例の貫通孔10の内壁を利用した電極形成方法は、基板1aと1bの接合面に凹凸が生じない。これは、接着剤を使用せずに基板同士を気密接合するためには非常に有利である。これに対し、基板1aもしくは1bの接合面（基板1aと1bの接触面）に電極を形成した場合、接合面に凹凸が生じるため、気密接合を実現することは困難となる。

【0028】図3は、本発明の板状部材の構成例および高電圧印加用の電極12およびコンタクトパッド13のレイアウト例を示す図である。基板1aに試料注入用流路溝7、分析用流路溝8および泳動バッファ溜め9が形成されている。基板1bには泳動バッファ溜め9に対応する位置に超音波加工により貫通孔10が形成されており、基板1bの外面、接合面（貫通孔周囲のみ）および貫通孔内壁には、電極12およびコンタクトパッド13が形成されている。ただし、図中には接合面および貫通穴内壁の電極は記載していない。このような基板1aと基板1bを気密接合することで、板状部材1を構成している。ここで、電極12およびコンタクトパッド13のレイアウトは特にこだわるものでなく、板部材を収納する泳動装置本体との接続が可能なレイアウトであれば良い。

【0029】図4は、本発明の電気泳動装置全体の概略を示した図である。電気泳動装置本体101は、板状部材100（前述の板状部材1に相当し、電極のレイアウトを電気泳動装置に合わせて形成したもの）を収納可能な構造とし、板状部材100のコンタクトパッドに電気的接触を保つ電極102、高圧電源103、電圧の切替制御部104および検出部（図示していないが、従来の電気泳動と同様のものでたとえば外部からレーザー光を照射してその吸光度を検出する検出部など）より構成されている。本装置構成により、板状部材を泳動装置本体に挿入するだけで分析が可能となる電気泳動装置が実現できる。

【0030】特に電気泳動装置本体側を含めて以下のような構成とすることにより、極めてコンパクトな装置が実現できる。板状部材に溝を形成してこの溝に泳動バッファを導入するとともに電圧を印加し、溝内で試料を泳動させることにより分離し、分離された試料を電気泳動装置本体の検出器により分析を行う電気泳動装置であって、前記板状部材は、第1基板と第2基板とを接合することにより一体に形成され、第1基板には両端部分にバッファ溜部を備えた分析用溝および試料注入用溝が形成され、第2基板には、前記第1基板のバッファ溜部に対

(5)

特開平8-178897

向する位置に貫通孔が形成されるとともに、この貫通孔内壁および貫通孔の両面周辺に電圧印加のための電極膜が形成され、さらに電極膜は板状基板の外面に設けたパターンによりコンタクトパッドに導通され、前記電気泳動装置本体には、この板状部材を一定位置に保持する着脱手段が設けられ、板状部材を着脱手段に保持したときにコンパクトパッドに高圧電源からの配線が接続される電極部が設けられたを特徴とする電気泳動装置。

【0031】

【発明の効果】本発明によれば、板状部材に高電圧印加用の電極が一体形成されているため、電気泳動装置全体の小型化が可能となり、ガラスキャピラリーで生じたような破損も減少する。

【0032】また、基板の接合面に凹凸がないため、確実な気密接合が容易となり、作製プロセスの歩留まり向上にも有利である。

【0033】また、従来は分析のたびにユーザが行っていたキャピラリー両端の泳動バッファ溜めに高電圧印加用の電極を浸す作業が不要となり、操作の簡略化および装置構成の簡略化が図れる。

【0034】さらに、板状部材を収納する構造、コンタクトパッドに電氣的接触を保つ電極、高圧電源、電圧の切替制御部および検出部を泳動装置本体に備えることで、装置本体に板状部材を挿入するだけで分析が可能となる電気泳動装置が実現できる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の一実施例である電気泳動装置の板状部

材を形成するプロセスを説明する図で、(a)はエッチング保護膜およびレジストの形成プロセス、(b)はレジストのパターニングプロセス、(c)はエッチング保護膜のパターニングプロセス、(d)はガラスのエッチングプロセス、(e)は貫通孔の加工プロセス、(f)は電極の形成プロセス、(g)は基板の接合プロセスを示す。

【図2】本発明の一実施例である電気泳動装置の板状部材の液溜部分の拡大断面図。

【図3】本発明の一実施例である電気泳動装置の板状部材の構成図。

【図4】本発明の一実施例である電気泳動装置の全体図。

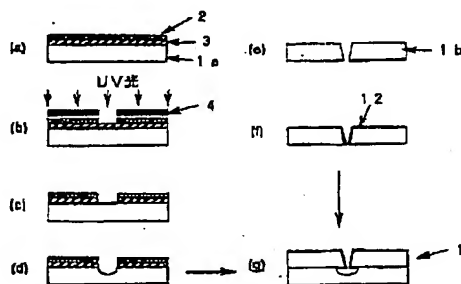
【図5】従来のキャピラリー電気泳動装置の構成図。

【図6】従来の板状部材を用いた電気泳動装置の構成図。

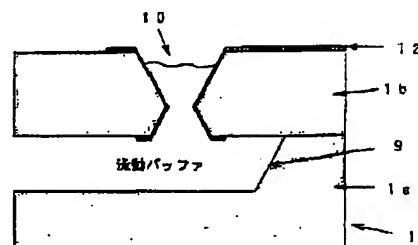
【符号の説明】

- 1、100：板状部材
- 1a、1b：基板
- 7：試料注入用流路溝
- 8：分析用流路溝
- 9：泳動バッファ溜
- 10：貫通孔
- 12：電極膜
- 13：コンタクトパッド
- 101：電気泳動装置本体
- 103：高圧電源

【図1】



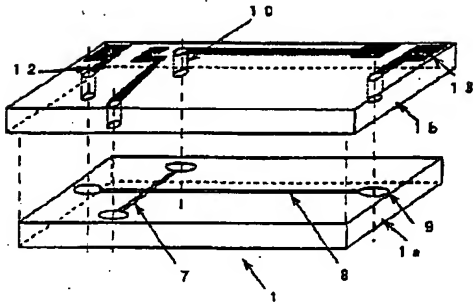
【図2】



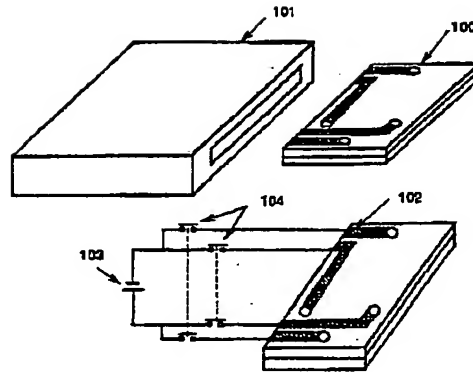
(6)

特開平8-178897

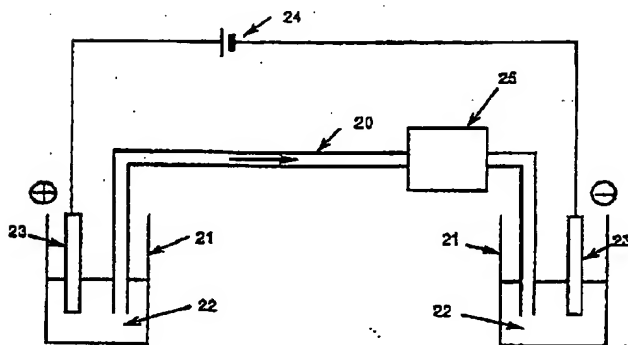
【図3】



【図4】



【図5】



【図6】

